

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Off nlegungsschrift**
⑩ **DE 100 46 970 A 1**

⑤1 Int. Cl. 7:
C 07 K 16/00
C 12 N 15/63
A 01 K 67/027

⑳ Aktenzeichen: 100 46 970.1
㉔ Anmeldetag: 22. 9. 2000
㉕ Offenlegungstag: 11. 4. 2002

DE 100 46 970 A 1

AT

㉑ Anmelder:
Brüß, Michael, Dr., 53121 Bonn, DE; Bönisch, Heinz,
Prof. Dr., 53125 Bonn, DE

㉒ Erfinder:
gleich Anmelder

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

㉓ P2y1-li(P2y1-like Purinozeptor): gen, cDNA, Expression, Aminosäuresequenz

DE 100 46 970 A 1

Beschreibung

[0001] Mit Hilfe der Aminosäuresequenz eines G Protein gekoppelten Rezeptors wurde durch Homologiesuche in einer öffentlich zugänglichen Datenbank ein potentiell Gen für einen neuen G Protein gekoppelten Rezeptor auf dem humanen Chromosom 13 identifiziert. Aus der Gensequenz wurden Oligonukleotide zur Amplifikation des potentiellen Rezeptorgens und dessen abgeleiteter cDNA (mRNA) Sequenz hergestellt und für die PCR-Amplifikation des Gens und der cDNA eingesetzt. Mittels dieser Primer konnte das intronlose Gen aus humaner genomischer DNA kloniert und sequenziert werden.

[0002] Dargestellt und beschrieben werden das humane Gen für den von uns als "P2y1-li" (P2y1-like Purinozeptor) bezeichneten neuen Rezeptor, die cDNA, welche den Rezeptor kodiert und die von der cDNA abgeleitete Aminosäuresequenz, sowie die Einordnung und potentielle Funktionen des zu patentierenden Rezeptors.

1. Das zu patentierende Gen erstreckt sich über 5435 Basen. Der kodierende Bereich des Gens (Pos. 3188 bis 4198) besteht aus einem offenem Leseraster von 1011 Basen und kodiert somit ein Protein von 337 Aminosäuren. Hydrophobizitätsanalyse der Aminosäuresequenz ergibt, daß es sich um einen G Protein gekoppelten Rezeptor mit sieben transmembranalen Domänen handelt. Die Aminosäuresequenz ist neu und bisher unbekannt und weist die beste Homologie (37% Identität; 58% Homologie) zum P2Y1-Purinozeptor der Maus auf und er besitzt auch fast die gleiche Homologie zu P2Y1-Rezeptoren der Ratte und des Menschen.

Weiterhin gehören zu der zu patentierenden Sequenz 3187 Basen des 5' nichttranslatierten Bereichs des Gens, welche vermutlich den Promotor (mit typischer TATA Box und CAP Signal) enthalten, sowie 1237 Basen des 3' nichttranslatierten Bereichs des Gens welche ein typisches Polyadenylierungssignal in Position 5309 bis 5314 enthalten.

2. Die Expression dieses Gens wurde mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) und Primern (sense: 5' GATGAA-AGGAGACAACCATG 3'; antisense: 5' CTCTGAGTTCCAATAGCTTG 3'), welche die kodierende Region des Gens flankieren, nachgewiesen. Dazu wurde folgendes Temperaturprogramm für die PCR verwendet: 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 3 min, 35 Zyklen. Wir konnten so die volle kodierende cDNA (offenes Leseraster) dieses Rezeptors aus einer humanen Schilddrüsenepithel-cDNA Bank vervielfältigen. Hiermit ist die Expression der mRNA dieses Rezeptors in diesem Gewebe eindeutig bewiesen. PCR mit genomischer DNA und diesen Primern ergab eine Bande von identischer Größe und durch Sequenzierung wurde eindeutig bewiesen, daß das Gen intronlos ist. Weiterhin konnte durch Homologiesuche in Datenbanken von exprimierten Sequenzstücken humaner Gene (EST = expressed sequence tags) eine exprimierte Sequenz von 177 Basenpaaren mit 100%iger Identität zu einem Sequenzstück des nichttranslatierten 3' Bereichs, beginnend kurz vor dem Stop-Coden des Gens identifiziert werden. Dieser EST (AW827323.1) entstammt aus einer humanen Schilddrüsenepithel-cDNA Bank. Da keine ESTs aus anderen Geweben als der Schilddrüse gefunden wurden, ist es sehr wahrscheinlich dass der Rezeptor vornehmlich, wenn nicht ausschliesslich in der Schilddrüse exprimiert wird.

3. Die von der cDNA Sequenz abgeleitete Aminosäuresequenz des Rezeptors ist 337 Aminosäuren (aa) lang. Hydrophobizitätsanalyse der Aminosäuresequenz ergibt eine putative Sekundärstruktur des Proteins als integrales Membranprotein mit sieben transmembranalen Domänen (TM), welche in folgenden Bereichen des Rezeptorproteins liegen: TM1: aa 39-55; TM2: aa 70-86; TM3: aa 120-136; TM4: aa 150-166; TM5: aa 200-216; TM6: aa 244-260 und TM7: aa 290-306. Das Protein enthält vier potentielle N-Glykosylierungsstellen, zwei davon im N-terminalen Bereich (Aminosäure Positionen 10 und 23) und zwei N-Glykosylierungsstellen in der extrazellulären Schleife zwischen TM4 und TM5. Weiterhin sind in der Aminosäuresequenz eine potentielle Proteinkinase C Phosphorylierungsstelle (Aminosäure Position 316) und eine potentielle Phosphorylierungsstelle für cAMP- und cGMP-abhängige Proteinkinasen (Aminosäureposition 332) enthalten, deren fakultative Phosphorylierung wahrscheinlich an der Modulation der Rezeptorfunktion beteiligt sind.

4. Einordnung und potentielle Funktionen des zu patentierenden Rezeptors und seines Gens (bzw. cDNA; mRNA)

[0003] Der Rezeptor gehört zur großen Genfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs). Innerhalb dieser Großfamilie zählt er zur Sub-Familie der "Klasse A Rhodopsin-ähnlichen" Rezeptoren. Er besitzt hohe Homologie zu Purinorezeptoren (insbesondere P2Y Typ 1), aber auch geringere Homologie zu Chemokin-Rezeptoren

[0004] Die Expression des P2y1-li Rezeptors wurde durch unsere Klonierung der cDNA aus einer Schilddrüsenepithelzell cDNA Bank und durch Auffinden eines ESTs aus diesem Gewebe eindeutig bewiesen. Da bisher kein EST aus einem anderen Gewebe gefunden wurde, scheint der Rezeptor relativ, wenn nicht ausschliesslich schilddrüsen-spezifisch zu sein. Aus vielen Publikationen ist bekannt, dass extrazelluläre Nukleotide wie Adenosintriphosphat (ATP) über entsprechende purinerge Rezeptoren an der Regulation der normalen Schilddrüsenfunktion, bzw bei Störungen in diesem System auch an der Pathogenese von Schilddrüsenfunktionen beteiligt sind. Es ist auch bekannt, dass P2Y-Rezeptoren auf Schilddrüsen-Krebszellen exprimiert werden (Schoff et al. [1997] Mol Cell Endocrinol 133: 33-39). Von der Ratten-Thyroid-Zelllinie FRTL-5 ist bekannt, dass ATP an diesen Zellen über bisher undefinierte P2Y-Rezeptoren große, Inositol-1,4,5-Triphosphat (IP3)-vermittelte, Calcium-abhängige Chlorid-Ströme, und damit eine Depolarisation der Zellmembran auslösen kann (Martin [1992] J Membr Biol 125: 243-253). Untersuchungen an Schilddrüsenepithel-Zellen des Schweins haben gezeigt, dass über einen bisher undefinierten Uridintriphosphat(UTP)-bevorzugenden P2-Rezeptor, welcher auf der apikalen Zellmembran sitzt, die Natriumabsorption gehemmt wird (Bourke et al. [1999] Br J Pharmacol 127: 1787-1792).

[0005] Da der von uns neu gefundene P2Y1-ähnliche Rezeptor, soweit bekannt, ausschliesslich in Schilddrüsenepithelzellen exprimiert wird, ist es höchstwahrscheinlich, dass diesem neuen Rezeptor wichtige Aufgaben bei der Regulation der Schilddrüsenfunktion zukommen. Dieser Rezeptor ist somit auch ein wichtiger neuer Angriffspunkt für Pharmaka, welche Agonisten oder Antagonisten an diesem Rezeptor sind. Ausserdem bietet die Kenntnis des Gens, der cDNA und der Aminosäuresequenz die Möglichkeit, neue pharmakotherapeutische, diagnostische und gentherapeuti-

sche Ansätze zu entwickeln.

MBHB-Rezept-16

P2y1-like Purinozeptor: Aminosäuresequenz

5

MNEPLDYLAN ASDFFDYAAA FGNCTDENIP LKMHYLPVIY GIIFLVGFPG NAVVISTYIF
 KMRPWKSSTI IMLNLACTDL LYLTSLPFLI HYYASGENWI FGDFMCKFIR FSFHFNLYSS
 ILFLTCSIF RYCVIIHPS CFSIHKTRCA VVACAVVWII SLVAVIPMTF LITSTNRTNR
 SACLDLTSSD ELNLIKWYNL ILTATTFCLP LVIIVTLCTT IIHTLTHGLQ TDSCLKQKAR
 RLITLILLAF YVCFLPFHIL RVIRIESRLL SISCSIEHQI HEAYIVSRPL AALNTFGNLL
 LYVVVSDNFQ QAVCSTVRCK VSGNLEQAKK ISYSNNP

10

MBHB-Rezept-16

P2y1-like Purinozeptor, cDNA-Sequenz

15

Start- und Stop-Codon fett

GATGA AAGGAGACAA CCATGAATGA GCCACTAGAC TATTTAGCAA
 ATGCTTCTGA TTTCCCCGAT TATGCAGCTG CTTTGGGAAA TTGCACTGAT GAAAACATCC
 CACTCAAGAT GCACTACCTC CCTGTTATTT ATGGCATTAT CTTCTCGTG GGATTTCCAG
 GCAATGCAGT AGTGATATCC ACTTACATTT TCAAAATGAG ACCTTGGAAG AGCAGCACCA
 TCATTATGCT GAACCTGGCC TGCACAGATC TGCTGTATCT GACCAGCCTC CCCTTCCTGA
 TTCACTACTA TGCCAGTGGC GAAACTGGA TCTTGGAGA TTTCATGTGT AAGTTTATCC
 GCTTCAGCTT CCATTTCAAC CTGTATAGCA GCATCCTCTT CCTCACCTGT TTCAGCATCT
 TCCGCTACTG TGTGATCATT CACCCAATGA GCTGCTTTC CATTACAAA ACTCGATGTG
 CAGTTGTAGC CTGTGCTGTG GTGTGGATCA TTTCACTGGT AGCTGTCATT CCGATGACCT
 TCTTGATCAC ATCAACCAAC AGGACCAACA GATCAGCCTG TCTCGACCTC ACCAGTTCGG
 ATGAACTCAA TACTATTAAG TGGTACAACC TGATTTTGAC TGCAACTACT TTCTGCCTCC
 CCTTGGTGAT AGTGACACTT TGCTATACCA CGATTATCCA CACTCTGACC CATGGACTGC
 AAAGTACAG CTGCCTTAAG CAGAAAGCAC GAAGGCTAAC CATTCTGCTA CTCCTTGCAT
 TTTACGTATG TTTTACCC TTCCATATCT TGAGGGTCAT TCGGATCGAA TCTCGCCTGC
 TTTCAATCAG TTGTCCATT GAGAATCAGA TCCATGAAGC TTACATCGTT TCTAGACCAT
 TAGCTGCTCT GAACACCTTT GGTAACCTGT TACTATATGT GGTGGTCAGC GACAACCTTC
 AGCAGGCTGT CTGCTCAACA GTGAGATGCA AAGTAAGCGG GAACCTTGAG CAAGCAAAGA
 AAATTAGTTA CTCAAAACAAC CCTTGAAATA TTTCATTAC TTAACCAAAA ACAATACTT
 GCTGATACCT TACCTAGCAT CCTAAGATGT TCAGGATGTC TCCCTCAATG GAACTCCTGG
 TAAATACTGT GTATTCAAGT AATCATGTGC CAAAGCCAGG GCAGAGCTTC TAGTTCCTTG
 CAATCCCTTT ATTGAGCTCC TCCACTGGGG AGATATAAGA ATGGGATGCA TGTATATCAG
 CAAAGTATTC AGACATAGTA TTACAAGCTA TTGGAAGTCA GAG

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

P2Y1-like Purinozeptor: Gensequenz

```

5  agtggtctcaa tctcggctta ctgcagccta gaaag agtcttgctg tgtcactcag gctgtagtac
   tcagcctccc aagtagctgg gactataggg cactctccag gttcaagcga ttctcgtgcc
   ttgtattttt aatagagagc gagtttttga atgggccacc acaccagct acgttttttt
   ccttgggcga tccgcctgcc tcagcctccc aaagtgcgta gggtacagc ttgagccact
   gtgcctggcc taagaaccaa gctttttttt agaagtagat ttgccccttc agtagccctt
   cagtaccata taagttttgc tgatgttact ggtgtgtctt taatgcattc agcaaatatt
10  aatatttact gcacaccttc catgtgccag cccctggggt atgaggtgac ttgtgttttt
   ctttcaagga tctgacaaat aagcagcttg gacttgaatt cccctccctt ctcttctctt
   cacgtctctg ttgaggcaaa tcccaattgg aatgaaataa ctctggagaa ttattttggg
   cgttactaaa actatcttta ctcttttgc ccagaagcaa cattagctac ttagtggcct
   cttgacataa tctaagaact gtctttggga cgtgctgctt ctgggactcc ttggctgtga
   ccattttctt tcaagtttaa gtgacttcct gctccttatg catgagtcca ttaagacat
15  tctgccaagg gagaagccat ccactgtggt tgcctggctt cagagcactc tcactgggtca
   gcagtccctg actcctatga cctccagtgc tgtgtagatg atagtttcat gaatagcact
   ttaacatct atgttgcat aggtattata agtaatctag agatgattta caggaggatg
   ggcattaggt aagtgtaaat accataccat tttattttta tatcagtgc gtgagcatct
   gcagattttg gtatccttgg ggtctgga accaatgcac tgcagatact aagggacaac
   tctacagtgt ttgatttatt gagctttctg agatattcag ccttttctct tcttcacact
20  tgtttttccc tctatttatt aggttaatcc tgatgaaat caacaaaata cacatgaaga
   gacagcactg acaggtaatg tgctaactgg tctttgtgat tacaggcact tcagatttcc
   tctttgccta ctcatgtga gatgcagccc agccctgcaa caagactgcc acagtcgtat
   cctggctcac ccttaactag cgttttgact ttgagcacat cactgcctcc tccgtgcctc
   agtttccctt ctgttgaat ggggatgatc acagcactac ctaccattt gttgtgagga
   ttaaatagat tcaaatatgt aagacactta cagtaatgct ttgtacacag aaggcactat
25  tattttttat taatccctat ttttccctcc caacttcatc tcccaatatc ccataaccat
   gctgatttcc ttacaactcc cccagacctc ctggactaag tgagatttgg aagagtatac
   tcagggcagt caagaaggat tgattctgct aatttaggat ttgtcaagt gggttagttt
   gaaatatacc tctgtactcc tctcaggaaa tgcctggatg tgtagattta gtatcagata
   atagtaataa tgggtggcaga ctctgatgtt tctccttccc cttgtgatct cagtgtctt
   gtaccattca tacatcaaat gacttagcaa ctaacaatc cgtaatat ttaagcttt
   tcttatgtgc ccagttagta gccaaagatt ttttttcta tttttaacat actattgaca
30  gctccatgag gtgggtttat attttgtaa aataatttgc catgtccact tccccagtag
   actgtgacag tggcatatac atctgtgtgt gttattcagt ttgtatctct aggacttgac
   agaggacca atacagagtg ggtgtccag aaatgtggac ttggatgcat ttaccaaca
   gctatttaca tccaaataat aagctaatta taactcttct tctagatgta ctttttcat
   tgcaaaaatt caccgtcaaa attttaaaa acactaataa gcaagaagaa ggaagttaa
   attgcactcc ttcagccctt agagagctta atcaacttgc ttaggaaacac gctactaat
35  ggctaactct agcaccaaaa tctggccatc tggcttcagg gctcagcctc ctaatggccg
   cattatacca ttgatccgc cccatccacc ccaacacaca cactcccctg cacaacaaa
   ttatgttagc tattaaaagg aattggaaga gtggaaatgt gcaattaaat ctaccacaaa
   tacaatgttg caatagctgc atctatatt tttaaaattt acagtattca gcattttctt
   gtcttcacac ttgttccctc cgttatttac ggcaatcatg acgaaaatca acaaaatata
   gattgagagg cagcactgag aggtaatgta gaaagggaaat ggcttttgag tcagaaaaat
40  gcgagtgtgg atccccagta agcccttaga tgtgttacca gagacgagcc gcaaaacatt
   tctcagctct agtctcttgt aaaatagagg taataagaaa cacttttcag tatttttga
   catgtagaag taagtgtagg tggcatgcat cacacttgggt taatagtagg tctgttgtt
   aagctcttaa tggcgatacc ctatggcttc tccaaatggt gaccttgcca aattgtttt
   caaagcgaca tgtggctttt tctcccaat cctcatttt aactctcatg gtaatttaac
   ttttatattt ttattagatg catttagtaa ctgtcctcat agtcattttc ttggaaattc
45  aatttcttct ccacaggttc tcttttgaga ttaagagag agaagtggca aatttaggat
   gttagaataa ttttcattha aaagtagatc cttgttttta ttaccctatc attaatgttt
   tctgttttcc ttatcagcg agttactgct catttgattc atattgcaa actgaactct
   cttgttttct tgcaagatga aaggagacaa ccatgaatga gccactagac tatttagcaa
   atgtcttga tttcccgat tatgcagctg cttttggaaa ttgcactgat gaaaacatcc
   cactcaagat gcaactacct cctgttatt atggcattat cttcctcgtg ggatttccag
50  gcaatgcagt agtgatatcc acttacattt tcaaatgag accttggaag agcagacca
   tcattatgct gaacctgggc tgcacagatc tgcgttatct gaccagcctc cccttctga
   ttcactacta tggcagtgcc gaaaactgga tctttggaga ttcatgtgt aagtttatcc
   gcttcagctt ccatttcaac ctgtatagca gcatcctctt cctcacctgt ttcagcatct
   tccgctactg tgtgatcatt caccatga gctgcttttc cattcacaaa actcgatgtg
   cagttgtagc ctgtgctgtg gtgtggatca tttcactggt agctgtcatt ccgatgacct
55  tcttgatcac atcaaccaac aggaccaaca gatcagcctg tctcgacctc accagtctcg
   atgaactcaa tactattaag tggtaacaac tgattttgac tgcaactact ttctgcctcc
   ccttggtgat agtgacactt tgctatacca cgaattacca cactctgacc catggactgc
   aaactgacag ctgccttaag cagaagcac gaaggctaac cattctgcta ctcttgcctc
   tttacgtatg ttttttacc ttccatctct tgagggtcat tcggatcgaa tctgcctgc
   tttcaatcag ttgttccatt gagaatcaga tccatgaagc ttacatcggt tctagacct
   tagctgctct gaacacctt ggtaacctgt tactatatgt ggtggtcagc gacaacttcc
   agcaggctgt ctgctcaaca gtgagatgca aagtaagcgg gaaccttgag caagcaaga
60  aaattagtta tccaacaac ccttgaaata tttcatttac ttaacaaaaa acaaatactt
   gctgatactt tacctagcat cctaagatgt tcaggatgtc tccctcaatg gaactcctgg
   taaatactgt gtattcaagt aatcatgtgc caagccagg gcagagcttc tagttctttg
   caatcccttt attgagctcc tccactggg agatataaga atgggatgca tgtatatcag
   caaagtattc agacatagta ttacaagcta ttggaactca gaggcactct agagaacatc
   tgttccacc aacttactat atatacagc aaaccaattt cttacccttg ccttagattg
65  ctcagtaaat ttgtgccaag ataggagaaa accaatcttt tcactcatca tttcatgctt

```

```

ctctgcactc tgggcctatt tgtattgaac cattagacaa ttcaaaccac tacttgtatc
tttcttaata tttatttttt acatctcaga gctctacaat ttgtttcctt caagcttaac
tttgagatta taaaactggg tttagccagt tctgtatatt acttcaagcc agtaagatac
ccttgaataa atccaaggac gtccatgcaa atagttgaaa ttagtacctg caatatattt
ggagtattat gtctttattg ttgttaaaaa gtttttattg aatgtatgaa aattatcaaa
ttgtattcat cattattaac atgtcctggg gaaggaaggg aaactttcta ggacagaagt
cactttcaga tgtcatgtat gtattgggtg ttcaatcata tctaacactg ttttgatttt
tgtgggaaaa tattccagga aacgctaatt ctctttagac tccttggtct tttatgacta
caatgaacat atgtctatgt gatagctaaa gatatttttg aattgtatgt gtgcttaatt
atcggttaagt ataatatttt gagaaaacac atgggtctgga tatttaaaac cctcataaac
atgttggtac agttaataaa cttatttata attatgtaat aggctgtttg gtcataattt
tctgtgaaaa tgcagtttta tcactattat attacatga aacttatttg ctctatgggt
aggaacaaaa ataagttaag aatcaataat attatagaat aaggcagaaa tagttgactt
acacagaggg aagggtacca tagaaattct tcctgatgtt ccagttcttc taggacatga

```

5

10

Patentansprüche

15

1. Das dargestellte Gen inclusive des 5' und 3' nichttranslatierten Bereichs und der Befund, dass das P2Y₁Li Gen auf dem humanen Chromosom 13 lokalisiert ist.
2. Transkriptionsfaktoren, RNA Polymerasen und Pharmaka sowie Chemikalien, die die Expression des Gens in positiver oder negativer Weise beeinflussen.
3. Die von dem Gen transkribierte messenger RNA inclusive davon abgeleitete Spleißvarianten und Isoformen.
4. Die von der mRNA oder von dem intronlosen Gen abgeleitete cDNA.
5. Das von der mRNA (oder dem Gen oder der cDNA) abgeleitete oder hergestellte Protein.
6. Antikörper oder Antiseren, welche gegen einzelne oder mehrere Epitope des Proteins oder gegen das ganze Protein hergestellt werden.
7. Monoklonale Antikörper oder Antiseren, die gegen einzelne oder mehrere Epitope des Proteins oder gegen das ganze Protein hergestellt werden.
8. Expressionssysteme (eukaryotische Zelllinien, Hefezellen, Xenopus Oocyten, Baculovirussysteme, bakterielle Expressionssysteme), welche das genannte Protein exprimieren (nativ oder recombinant).
9. Ligand-Bindungsstudien und Screening assays an nativen oder recombinanten Rezeptoren oder Zellen oder Zellmembranen, welche diesen Rezeptor enthalten.
10. Transgene Tiere und knock out Tiere, welche diesen Rezeptor in veränderter Dichte oder gar nicht exprimieren.
11. Methoden der Gentherapie, welche sich auf diesen Rezeptor bzw. sein Gen oder seine mRNA (cDNA) erstrecken, und deren Entwicklung und Anwendung.
12. Sense und Antisense Oligonukleotide, welche von diesem Gen abgeleitet wurden, sowie deren Anwendung.
13. Die Diagnose und Behandlung von Krankheiten, die mit diesem Rezeptor in direkter oder indirekter Weise in Verbindung stehen.
14. Methoden zur Diagnose von Erkrankungen, die mit diesem Rezeptor (oder dessen Gen, mRNA) in direkter oder indirekter Weise in Verbindung stehen wie z. B. Hybridisierungstechniken, Sequenzierung, SSCP, RFLP, Northern Blot, Southern Blot, Western Blot, Expressions Arrays, Antikörper, Mutationsanalysen.
15. Die Benutzung der Informationen zur Entwicklung neuer Pharmaka, Verbindungen und Chemikalien und die Evaluierung vorhandener Pharmaka, Verbindungen und Chemikalien sowie zur Entwicklung neuer Technologien oder Evaluierung vorhandener Technologien.
16. Das Patent soll sich auch erstrecken auf die Punkte 1. bis 15. für modifizierte Proteine, und Gen-, cDNA- und mRNA-Sequenzen (Aminosäureaustausche, Basenaustausche).

50

55

60

65

- Leerseite -